

PCT/JP00/03806 #2

12.06.00

10/009962

日本国特許庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 27 JUL 2000

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1999年 6月14日

出願番号

Application Number:

平成11年特許願第167439号

出願人

Applicant(s):

科学技術振興事業団

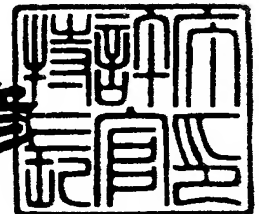
**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 6月29日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

近藤 隆彦



出証番号 出証特2000-3054070

【書類名】 特許願

【整理番号】 NP99211-YS

【特記事項】 特許法第 3 0 条第 1 項の規定の適用を受けようとする特
許出願

【提出日】 平成11年 6月14日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C07H 21/00
C07K 14/415

【発明の名称】 植物の発熱関連遺伝子と発熱関連タンパク質

【請求項の数】 6

【発明者】
【住所又は居所】 岩手県盛岡市緑が丘 1 - 1 7 - 7
エステート緑が丘 2 0 7

【氏名】 伊藤 菊一

【特許出願人】
【識別番号】 396020800
【氏名又は名称】 科学技術振興事業団

【代理人】
【識別番号】 100093230
【弁理士】
【氏名又は名称】 西澤 利夫
【電話番号】 03-5454-7191

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 009911
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 植物の発熱関連遺伝子と発熱関連タンパク質

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ザゼンソウ由来の発熱関連遺伝子であって、その cDNA が配列番号 1 の塩基配列を有することを特徴とする遺伝子 SfUCP a。

【請求項 2】 ザゼンソウ由来の発熱関連遺伝子であって、その cDNA が配列番号 3 の塩基配列を有することを特徴とする遺伝子 SfUCP b。

【請求項 3】 請求項 1 の遺伝子 SfUCP a が発現する発熱関連タンパク質であって、配列番号 2 のアミノ酸配列を有することを特徴とするタンパク質 SfUCP A。

【請求項 4】 請求項 2 の遺伝子 SfUCP b が発現する発熱関連タンパク質であって、配列番号 4 のアミノ酸配列を有することを特徴とするタンパク質 SfUCP B。

【請求項 5】 配列番号 1 の塩基配列またはその一部配列を有する DNA 断片。

【請求項 6】 配列番号 3 の塩基配列またはその一部配列を有する DNA 断片。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この出願の発明は、植物の発熱関連遺伝子と発熱関連タンパク質に関するものである。さらに詳しくは、この出願の発明は、低温耐性植物の開発等の植物育種分野、糖尿病や肥満等の治療に関する医学分野、植物由来の新規発熱素材開発等の工学分野において有用なザゼンソウ (*Symplocarpus foetidus*) 由来の発熱関連遺伝子とこの遺伝子の発現産物である発熱関連タンパク質に関するものである。

【0002】

【従来の技術とその課題】

低温、乾燥および塩ストレスは、陸棲植物が遭遇する共通の有害な環境因子で

ある。これらのストレスのうち、低温傷害および凍結傷害を引き起こす低温は作物の生産性を制限する最も重要な因子であると考えられている (Levitt, 1980)。これらの低温ストレスに対処するために、コムギやライムギのような耐冷植物は低温馴化を導く多くの生理学的応答および代謝応答を行う (Sakai and Larcher, 1987; Steponkus, 1984; Thomashow, 1998; Uemura and Steponkus, 1997)。対照的に、ザゼンソウを含むいくつかの植物は熱発生によって冷却化を回避する特殊化された機構を有していることが知られている (Knutson, 1974; Nagy et al., 1972; Schneider and Buchenen, 1980)。

【0003】

早春に咲くザゼンソウの肉穂花序 (spadix) における花の温度は、大気温度が -15°C に低下する場合であっても $+10^{\circ}\text{C}$ よりも高いままである (Knutson, 1974)。例えば、図1は、屋外で採取したザゼンソウを人工気象室内に移し、部屋の温度を低下させた際の肉穂花序の温度を赤外線カメラで測定した結果である。この図1からも明らかなように、ザゼンソウの肉穂花序の温度は気温が低下してもほぼ 19°C を保っている。

【0004】

このような温度維持は、 12°C から氷点下の温度レベルに呼吸速度を倍増することによって達成されている。熱発生植物によって生成される熱は植物のミトコンドリアに特有の経路、すなわち代替オキシダーゼ (AOX) によって調節されるミトコンドリアのシアン化物非感受性・非リン酸化電子輸送経路の活性増加に関連すると考えられてきた (Berthold and Siedow, 1993; Ito et al., 1997; McIntosh, 1994; Wangner and Krab, 1995)。

【0005】

一方、哺乳動物においては、脱共役タンパク質 (uncoupling protein: UCP) と呼ばれるミトコンドリアタンパク質が熱産生において重要な役割を果たすことが示されてきた。ミトコンドリアの内膜において見出される UCPs は、膜内に H^{+} を流入させることによって、化学エネルギーを代謝熱へと散逸させる ATP 合成から呼吸を脱共役する (Klaus et al., 1991; Klingenberg and Winkler, 1985; Ricquier et al., 1991)。動物においては、3つの UCP が見出され

ている。UCP 1 は主として褐色脂肪組織に分布し (Nicholls and Locke, 1984)、UCP 2 は多くの組織において偏在的に見出され (Fleury et al., 1997)、UCP 3 は骨格筋に極めて特異的である (Boss et al., 1997)。

【0006】

哺乳動物 UCPs は、ミトコンドリアの他のキャリアタンパク質と同様に、6つの膜貫通セグメントから構成され、その疎水性部分是对合した両親媒性 α -ヘリックス構造に由来すると考えられている (Liu et al., 1988; Maia et al., 1998)。さらに、これらの UCPs の活性は、プリンヌクレオチド (ATP、GTP、GDP および ADP) を C 末端領域に結合することによって低下し、遊離脂肪酸によって増加することも知られている (Jezek et al., 1998; Lin and Klingenberg, 1982; Katiyar and Shrago, 1989; Rial et al., 1983; Sluse et al., 1998)。

【0007】

これに対して、近年、植物由来の UCP 様タンパク質をコードする 2 つの cDNA が、ジャガイモ (StUCP: Laloi et al., 1997) およびシロイヌナズナ (AtPUMP: Maia et al., 1998) から単離された。StUCP の発現は主として花および果実において検出されたため、AOX と共に、開花および果実熟成において激発する呼吸に関連し得ると仮定されている (Laloi et al., 1997)。

【0008】

ジャガイモおよびシロイヌナズナは非熱発生植物であると考えられているが、StUCP および AtPUMP の低温誘導性発現は、これらの遺伝子が熱発生に関与していることを示唆する (Laloi et al., 1997; Mala et al., 1998)。

しかしながら、ザゼンソウのような熱発生植物において、UCP 様タンパク質が媒介する熱生成の分子機構は全く同定されていない。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

この出願の発明は、これまでに同定されていない熱発生植物ザゼンソウ由来の新規 UCP 遺伝子を提供することを課題としている。

またこの出願は、この新規遺伝子の発現産物であるザゼンソウUCPを提供することを課題としてもいる。

【0010】

【課題を解決するための手段】

この出願は、前記の課題を解決するための発明として、ザゼンソウ由来の発熱関連遺伝子であって、cDNAが配列番号1の塩基配列を有することを特徴とする遺伝子SfUCPaと、cDNAが配列番号3の塩基配列を有することを特徴とする遺伝子SfUCPbを提供する。

【0011】

またこの出願は、前記の遺伝子SfUCPaが発現する発熱関連タンパク質であって、配列番号2のアミノ酸配列を有することを特徴とするタンパク質SfUCPAと、前記の遺伝子SfUCPbが発現する発熱関連タンパク質であって、配列番号4のアミノ酸配列を有することを特徴とするタンパク質SfUCPBをそれぞれ提供する。

【0012】

さらにこの出願は、配列番号1の塩基配列またはその一部配列を有するDNA断片と、配列番号3の塩基配列またはその一部配列を有するcDNA断片とをそれぞれ提供する。

すなわち、この発明の遺伝子SfUCPaは、そのcDNAが配列番号1の塩基配列を有しており、このcDNAが配列番号2のアミノ酸配列を有する推定分子量32.6kDaのタンパク質SfUCPAをコードしている。また、この発明の遺伝子SfUCPbのcDNA（配列番号3）は、配列番号4のアミノ酸配列を有する推定分子量29.0kDaのタンパク質SfUCPBをコードしている。

【0013】

この発明の遺伝子SfUCPaおよびSfUCPbは、低温時に肉穂花序特異的に発現するザゼンソウ遺伝子である。すなわち、公知の方法（Ito et al., 1999）により抽出したザゼンソウ全RNAについてノーザンブロッティング（Ito et al., 1994）を行った結果、図2に示したように、室温（15℃）において両遺伝子とも肉穂花序での発現が検出されたが、葉では検出されないことが確認されて

いる。また、肉穂花序に特異的な両遺伝子の発現は、低温処理（4℃、3日間）によって誘導されることも確認されている。

【0014】

この出願の遺伝子がそれぞれに発現するタンパク質 SfUCPA および SfUCPB のアミノ酸配列は、ホモロジー検索の結果、ヒトUCP に対してよりも、植物UCP に対してより高い相同性を示す（図3）。すなわち、SfUCPA のアミノ酸配列は、StUCP、AtPUMP、ヒトUCP、UCP2 および UCP3 に対して、それぞれ、79%、75%、44%、48% および 48% 同一である。SfUCPB は StUCP、AtPUMP、ヒトUCP、UCP2 および UCP3 に対して、それぞれ、71%、66%、41%、43% および 44% 同一である。

【0015】

また、SfUCPA および SfUCPB は互いに高い配列同一性（88%）を示すが、図3に示したように、SfUCPA の第204番目Thrと第238番目Valとの間のアミノ酸配列に対応する領域が、SfUCPB においては完全に欠失している。さらに、SfUCPA の第265番目のLeuは、SfUCPB ではProに置換されている。

【0016】

SfUCPA は、他のミトコンドリアUCPタンパク質と同様の構造を有している。すなわち、SfUCPA は、図4に疎水性プロットを示したとおりに6カ所の膜貫通ドメインを有し、そのトポロジーは図5に示したとおりである。加えて、このSfUCPA はミトコンドリアエネルギー伝達タンパク質に特徴的なドメイン（Boss et al., 1997; Maia et al., 1998）を3カ所に有している（図3）。一方、SfUCPB は、3番目のミトコンドリアエネルギー伝達タンパク質特徴的ドメインを欠損しているとともに（図3）、5番目の膜貫通ドメインが欠失しており（図3および図6）、そのトポロジーはC末端がミトコンドリアのマトリックス側に向いている（図7）。

【0017】

いずれのタンパク質もC末端にプリンヌクレオチド結合ドメイン（PNBD）を有しているが（図3、図5および図7）、UCP はプリンヌクレオチドの結合

によりミトコンドリア内膜における脱共役機能が抑制されることが知られている。しかし、SfUCPBはC末端がミトコンドリアのマトリックス側に向いていることから、プリンヌクレオチドの結合による活性抑制を免れている可能性がある。このようなトポロジを有するUCPは動物、植物を問わず従来全く知られていない。

【0018】

この出願によって提供されるザゼンソウ由来の発熱関連遺伝子SfUCaおよびSfUCPbは、例えば、遺伝子組換え技術を用いた低温耐性植物の開発に極めて有用である。また、この遺伝子の発現産物であるタンパク質SfUCPAおよびSfUCPBは、ATP合成に対する脱共役機能により、糖尿病や肥満等の治療薬の有効成分等として期待される。さらには、このような発熱関連タンパク質は植物由来の新規発熱素材としても有望である。

【0019】

以下、各発明の実施の形態をさらに詳しく説明する。

【0020】

【発明の実施の形態】

この発明の遺伝子SfUCPaおよびSfUCPbは、各々、この発明の各cDNA（配列番号1または3）もしくはそれらの一部配列をプローブとして、ザゼンソウのゲノムDNAから単離することができる。例えば、ゲノムDNAから公知の方法によりゲノムライブラリーを作成し、cDNAの任意部分の塩基配列に基づいて合成したオリゴヌクレオチドをプローブとして、公知の方法によりコロニーあるいはブランクハイブリダイゼーションによるスクリーニングを行えばよい。あるいは、染色体に対するin situハイブリダイゼーションによって目的の遺伝子領域を同定することもできる。

【0021】

この発明の各cDNAは、例えば、ザゼンソウのポリ(A)⁺RNAを鋳型として合成したcDNAライブラリーからクローン化することができる。その場合には、この発明によって提供されるcDNAの任意部分のオリゴヌクレオチドを合成し、これをプローブとして用いて、公知の方法によりコロニーあるいはブランク

ハイブリダイゼーションによるスクリーニングを行えばよい。また、目的とする cDNA 断片の両末端にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを合成し、これをプライマーとして用いて、ザゼンソウ細胞から単離した mRNA から RT-PCR 法により、この発明の cDNA を調製することもできる。

【0022】

なお、一般に真核細胞の遺伝子は多型が頻繁に認められる。従って配列番号 1 および 3 において、1 または複数個のヌクレオチドの付加、欠失および／または他のヌクレオチドによる置換がなされている cDNA もこの発明の cDNA に含まれる。同様に、これらの塩基の変更によって生じる 1 または複数個のアミノ酸の付加、欠失および／または他のアミノ酸による置換がなされているタンパク質もこの発明に含まれる。

【0023】

この発明の cDNA には、配列番号 1 および 3 の塩基配列のいかなる部分配列を含む DNA 断片 (10bp 以上) も含まれる。また、センス鎖およびアンチセンス鎖からなる DNA 断片も含まれる。

この発明のタンパク質 SfUCPA および SfUCPB は、それぞれ公知の方法、すなわちザゼンソウの肉穂花序などから単離する方法、この出願によって提供されるアミノ酸配列に基づいて化学合成によりペプチドを調製する方法、あるいはこの出願によって提供される cDNA を用いて組換え DNA 技術で生産する方法などにより取得することができる。例えば、組換え DNA 技術によってタンパク質を取得する場合には、この発明の cDNA を保有するベクターからインビトロ転写によって RNA を調製し、これを鋳型としてインビトロ翻訳を行なうことにより、タンパク質を得ることができる。また cDNA の翻訳領域を公知の方法により適当な発現ベクターに組換え、この組換えベクターで大腸菌、枯草菌、酵母、動植物細胞等を形質転換すれば、これらの形質転換体でタンパク質を大量に発現させることができる。

【0024】

この発明のタンパク質をインビトロ翻訳で生産させる場合には、RNA ポリメラーゼプロモーターを有するベクターにこの発明の cDNA の翻訳領域を組換え

、プロモーターに対応するRNAポリメラーゼを含むウサギ網状赤血球溶解物や小麦胚芽抽出物などのインビトロ翻訳系に添加すればよい。RNAポリメラーゼプロモーターとしては、T7、T3、SP6などが例示できる。

【0025】

また、この発明のタンパク質を大腸菌などの微生物で発現させる場合には、微生物中で複製可能なオリジン、プロモーター、リボソーム結合部位、cDNAクローニング部位、ターミネーター等を有する発現ベクターに、この発明のcDNAの翻訳領域を組換えて発現ベクターを作成し、この発現ベクターで宿主細胞を形質転換したのち、得られた形質転換体を培養すればよい。この際、任意の翻訳領域の前後に開始コドンと停止コドンが付加すれば、任意の領域を含むタンパク質断片を得ることができる。あるいは、他のタンパク質との融合タンパク質として発現させ、この融合タンパク質を適当なプロテアーゼで切断することによって目的とするタンパク質のみを取得することもできる。大腸菌用発現ベクターとしては、pUC系、pBluescript II、pET発現システム、pGEX発現システムなどが例示できる。

【0026】

この発明のタンパク質を真核細胞で発現させる場合には、この発明のcDNAの翻訳領域を、プロモーター、スプライシング領域、ポリ(A)付加部位等を有する真核細胞用発現ベクターに組換え、真核細胞内に導入する。発現ベクターとしては、pKA1、pCDM8、pSVK3、pMSG、pSVL、pBK-CMV、pBK-RSV、EBVベクター、pRS、pYES2などが例示できる。真核細胞としては、サル腎臓細胞COS7、チャイニーズハムスター卵巣細胞CHOなどの哺乳動物培養細胞、出芽酵母、分裂酵母、カイコ細胞、アフリカツメガエル卵細胞などが一般に用いられるが、これらに限定されるものではない。発現ベクターを真核細胞に導入するには、電気穿孔法、リン酸カルシウム法、リボソーム法、DEAEデキストラン法など公知の方法を用いることができる。

【0027】

上記の方法により原核細胞や真核細胞でタンパク質を発現させたのち、培養物から目的タンパク質を単離精製するためには、公知の分離操作を組み合わせて行

う。例えば、尿素などの変性剤や界面活性剤による処理、超音波処理、酵素消化、塩析や溶媒沈殿法、透析、遠心分離、限外濾過、ゲル濾過、SDS-PAGE、等電点電気泳動、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー等である。

【0028】

この発明のタンパク質 SfUCPA および SfUCPB には、配列番号 2 および 4 のアミノ酸配列におけるいかなる部分配列を含むペプチド断片（5 アミノ酸残基以上）も含まれる。また、この発明のタンパク質には、他の任意のタンパク質との融合タンパク質も含まれる。

【0029】

【実施例】

以下、実施例を示してこの出願の発明についてさらに詳細かつ具体的に説明するが、この出願の発明は以下の例によって限定されるものではない。

実施例 1 : cDNA のクローニング

ザゼンソウの肉穂花序から全 RNA を抽出し、1.0% アガロースゲル電気泳動によって完全な RNA を決定した (Ito et al., 1999)。mRNA 単離キット (Pharmacia) を用いて精製したポリ(A)⁺RNA から、RT-PCR 法により UCP 遺伝子ファミリーの関連クローンを単離した。第 1 鎖 cDNA は、ポリ(A)⁺RNA (0.1 μg) に 20 pmol の cDNA プライム化プライマー (5'-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT-3') をアニールし、次いで 10 ユニットの逆転写酵素 (New England Biolab) を使用して、37℃ で 30 分間、10 mM 1, 4-ジチオトレイトールおよび 0.5 mM dNTP を含有する 20 μl の 1 × RT 緩衝液中で伸長した。反応溶液の組成は以下のとおりである。

【0030】

- ・ 10 mM Tris-HCl (pH8.0) ;
- ・ 50 mM KCl ;
- ・ 1.5 mM MgCl₂ ;
- ・ 4 mM dNTP ;
- ・ 0.2 ユニットの EX Taq ポリメラーゼ (Takara) ; および

・UCPファミリーの保存されたアミノ酸配列に対応する10pmolの2つの縮重プライマー：

Z F 1 (5'-CCIYTIGAYACIGCIAAR-3') ；

Z R 1 (5'-ACWTTCCAISYICCIAWIC-3')

また、PCRサイクルは以下のとおりとした。

【0031】

(94℃：0.5分間、50℃：1分間、72℃：1分間) × 35

以上の方法により得たPCR産物のうち、約0.8kbのcDNAフラグメントの配列から推定されるアミノ酸配列は、UCP遺伝子群の1つのリーディングフレーム配列と極めて高い相同性を示したので、このフラグメントをT-ベクターにクローニングし(クローンp2-1)、ライブラリースクリーニングのためのプローブとした。

【0032】

肉穂花序から調製したポリ(A)⁺RNA (5 μg) を公知の方法 (Sambrook et al., 1989) によってλgt11ファージに挿入し、cDNAライブラリーを構築した。このライブラリーから前記プローブに対するポジティブクローン8個を単離し、pBluescript SKプラスミド (Stratagene) にサブクローニングした。そして、これらのクローンから、完全長のSfUCP a cDNAおよびSfUCP b cDNAをそれぞれ保有するクローンp z 8-1およびp z 8-2を得た。

【0033】

なお、各クローンのインサートは、BcaBest配列決定キット (Takara) ならびにT3、T7および遺伝子特異的プライマーを用い、ABI373A自動化シーケンサーにより配列決定した。配列データを、GENETYX-Homologyソフトウェアシステム・バージョン2.2.0 (Software Development) を使用して解析した。

SfUCP a のcDNAは、配列番号1に示した1,525bpの塩基配列を有しており、SfUCPのcDNAは配列番号3に示した2,991bpの塩基配列を有していた。推定のポリアデニル化シグナル (aataaa) は、SfUCP a のcDNAではポリ(A)配列から236bp上流で見出されたが、SfUCP b のcDNAでは1,171bpおよび1,243bpの位置に2つのポリアデニル化部位が認められた。SfUCP a に比

較して SfUCP b の cDNA が長い 3' 非翻訳領域を含むという事実は注目に値する。

【0034】

また、SfUCP a の cDNA は、配列番号 1 に示したように、303 アミノ酸をコードするオープンリーディングフレーム (ORF) を含んでおり、この ORF には配列番号 2 に示したアミノ酸配列を有する推定分子量 32.6kDa のタンパク質 SfUCPA がコードされていた。一方、SfUCP b の cDNA は、配列番号 3 に示したように、268 アミノ酸の ORF を含んでおり、この ORF には推定分子量 29.0kDa のタンパク質 SfUCPB がコードされていた。

【0035】

さらに、サザンブロット分析の結果から、ザゼンソウのゲノムは SfUCP a 遺伝子を複数コピー、SfUCP b 遺伝子を単一コピー含んでいることが確認された (データ示さず)。

実施例 2 : cDNA のインビトロ翻訳

実施例 1 で得たプラスミドクローン pz 8-1 および pz 8-2 を直線化し、T7 RNA ポリメラーゼまたは T3 RNA ポリメラーゼを使用して、MAXICRIPT 転写キット (Ambion) のプロトコルに従い、センスまたはアンチセンス RNA を転写した。等量の RNA (4 μ g) を 35 S-メチオニン (Amersham) の存在下でコムギ胚抽出物 (Promega) を用いたインビトロ翻訳反応に供した。翻訳産物は SDS-PAGE で分析した。ゲルを固定し、Amplify (Amersham) 中でインキュベートした後乾燥し、蛍光分析した。

【0036】

その結果、図 8 に示したように、いずれの cDNA ともセンス RNA を鋳型とした時にのみ予想された分子量のタンパク質が産生されることから、実施例 1 で単離した cDNA の開始コドンおよび終始コドンが正しく機能していることが確認された。

【0037】

【発明の効果】

以上詳しく説明したとおり、この出願によって、熱発生植物であるザゼンソウ

由来の新規発熱関連遺伝子 SfUCP a および SfUCP b、並びにこれらの遺伝子産物である発熱関連タンパク質 SfUCP A および SfUCP B、さらにはこれらのタンパク質を遺伝子工学的に大量生産するための遺伝子 cDNA が提供される。これらの遺伝子およびタンパク質によって、低温耐性植物の開発、糖尿病や肥満等の治療薬および治療方法の開発、植物由来の新規発熱素材の開発等が可能となる。

【 0 0 3 8 】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> 科学技術振興事業団

<120> 植物の発熱関連遺伝子と発熱関連タンパク質

<160> 4

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1525

<212> DNA

<213> *Symplocarpus foetidus*

<220>

<221> CDS

<222> (280)..(1188)

<221> poly A site

<221> (1271)..(1276)

<400> 1

```
gaggattcgc agaagaaagg ccagaaccgc attccttccc gtctttcttct ccttccgccc 60
aattgcagtt ttctgcagcg gcgtcatcat caagaccctc cgcctttccg cgccaaacgc 120
cttccacccc cacccaatcg ccttccggtt cccgaaatat tctcttccc tcttcccttt 180
tcttctctac ataaacccta accaccccat cctctcctcc cgcttccgac caccctgcat 240
tctactggga gcccatgtga tcgaggtttc ccggcgagg atg ggc gat cac ggc 294
```

Met Gly Asp His Gly

	1	5	
ccg agg acc gag atc tcg ttt gcc ggc agt tcg cga gca gca ttc gcc	342		
Pro Arg Thr Glu Ile Ser Phe Ala Gly Ser Ser Arg Ala Ala Phe Ala			
10 15 20			
gct tgc ttc gcc gag ctt tgc acg att ccg ttg gac act gct aaa gtt	390		
Ala Cys Phe Ala Glu Leu Cys Thr Ile Pro Leu Asp Thr Ala Lys Val			
25 30 35			
agg ctt caa ctc caa aag aaa gca gta aca ggt gat gtg gtg gct ttg	438		
Arg Leu Gln Leu Gln Lys Lys Ala Val Thr Gly Asp Val Val Ala Leu			
40 45 50			
cca aaa tac agg gga atg ttg ggc act gtt gcc act att gcc agg gag	486		
Pro Lys Tyr Arg Gly Met Leu Gly Thr Val Ala Thr Ile Ala Arg Glu			
55 60 65			
gaa ggt ttg tcg gca ctc tgg aaa gga att gta ccc ggt ttg cat cgt	534		
Glu Gly Leu Ser Ala Leu Trp Lys Gly Ile Val Pro Gly Leu His Arg			
70 75 80 85			
caa tgc ctc ttt gga ggg cta cga att ggg ttg tat gaa cca gtt aag	582		
Gln Cys Leu Phe Gly Gly Leu Arg Ile Gly Leu Tyr Glu Pro Val Lys			
90 95 100			
tcc ttt tat gtt gga gat aac ttt gtt gga gat att cct tta tcc aag	630		
Ser Phe Tyr Val Gly Asp Asn Phe Val Gly Asp Ile Pro Leu Ser Lys			
105 110 115			
aaa ata ctt gct ggg ctt aca aca ggt gca tta gca att ata gtg gca	678		
Lys Ile Leu Ala Gly Leu Thr Thr Gly Ala Leu Ala Ile Ile Val Ala			
120 125 130			
aat ccc act gac ctt gtt aaa gtt cga ctt caa tct gaa ggt aaa ctc	726		
Asn Pro Thr Asp Leu Val Lys Val Arg Leu Gln Ser Glu Gly Lys Leu			
135 140 145			
ccc cct ggg gta ccg aga cgt tat tca ggg gcg cta aat gct tat tca	774		

Pro	Pro	Gly	Val	Pro	Arg	Arg	Tyr	Ser	Gly	Ala	Leu	Asn	Ala	Tyr	Ser	
150					155				160						165	
acc	ata	gtc	aaa	aag	gaa	gga	ctt	ggt	gct	ctg	tgg	act	ggg	ctt	ggt	822
Thr	Ile	Val	Lys	Lys	Glu	Gly	Leu	Gly	Ala	Leu	Trp	Thr	Gly	Leu	Gly	
				170					175					180		
cct	aat	att	gcc	cgc	aat	gct	att	ata	aat	gct	gct	gaa	ttg	gcc	agt	870
Pro	Asn	Ile	Ala	Arg	Asn	Ala	Ile	Ile	Asn	Ala	Ala	Glu	Leu	Ala	Ser	
			185						190					195		
tat	gat	caa	gtg	aaa	cag	aca	atc	tta	aaa	tta	cca	gga	ttc	tca	gat	918
Tyr	Asp	Gln	Val	Lys	Gln	Thr	Ile	Leu	Lys	Leu	Pro	Gly	Phe	Ser	Asp	
		200						205					210			
aat	att	ttt	act	cat	att	tta	gcc	ggt	ctg	ggg	gca	ggt	ttt	ttt	gcc	966
Asn	Ile	Phe	Thr	His	Ile	Leu	Ala	Gly	Leu	Gly	Ala	Gly	Phe	Phe	Ala	
		215						220					225			
gtc	tgt	atc	ggg	tct	cct	gtt	gat	gtg	atg	aag	tct	aga	atg	atg	gga	1014
Val	Cys	Ile	Gly	Ser	Pro	Val	Asp	Val	Met	Lys	Ser	Arg	Met	Met	Gly	
230					235					240					245	
gat	tca	gcc	tac	aaa	agc	aca	ttt	gat	tgt	ttc	atc	aag	aca	ttg	aaa	1062
Asp	Ser	Ala	Tyr	Lys	Ser	Thr	Phe	Asp	Cys	Phe	Ile	Lys	Thr	Leu	Lys	
				250					255					260		
aat	gat	ggg	ctt	ctt	gct	ttt	tac	aag	ggg	ttt	atc	cca	aac	ttt	ggt	1110
Asn	Asp	Gly	Leu	Leu	Ala	Phe	Tyr	Lys	Gly	Phe	Ile	Pro	Asn	Phe	Gly	
			265						270					275		
cgg	tta	gga	tcg	tgg	aat	gtg	atc	atg	ttt	ttg	acc	ttg	gag	cag	gtc	1158
Arg	Leu	Gly	Ser	Trp	Asn	Val	Ile	Met	Phe	Leu	Thr	Leu	Glu	Gln	Val	
			280						285					290		
aag	aag	ttt	ttc	atc	aaa	gag	gtg	cca	aat	taata	cattg	aactc	gggata			1208
Lys	Lys	Phe	Phe	Ile	Lys	Glu	Val	Pro	Asn							
			295						300							

ggagtagaaa gaaaggggtt ttgtggaatt ttctctaccg gtgtggatcc tggcgagaga 1268
 caaataaatc ttctgactg ctccagatgtg tacctttttt atgaatgggt cttttcttat 1328
 agaggacaga gaaaagaaaa aaaaaatcat tgtcatttac tctttttccc catttctgct 1388
 gctaattcttg gtaggagaag aaaagtctta cattgagtga taacgttggt ctctgcatcc 1448
 attatttttc agagatacta ttgacacat gaaaagtaat gcacatcagg ttttttttaa 1508
 aaaaaaaaaa aaaaaaaa 1525

<210> 2

<211> 303

<212> PRT

<213> *Symplocarpus foetidus*

<400> 2

Met	Gly	Asp	His	Gly	Pro	Arg	Thr	Glu	Ile	Ser	Phe	Ala	Gly	Ser	Ser
1				5				10					15		
Arg	Ala	Ala	Phe	Ala	Ala	Cys	Phe	Ala	Glu	Leu	Cys	Thr	Ile	Pro	Leu
		20						25					30		
Asp	Thr	Ala	Lys	Val	Arg	Leu	Gln	Leu	Gln	Lys	Lys	Ala	Val	Thr	Gly
		35						40					45		
Asp	Val	Val	Ala	Leu	Pro	Lys	Tyr	Arg	Gly	Met	Leu	Gly	Thr	Val	Ala
	50							55					60		
Thr	Ile	Ala	Arg	Glu	Glu	Gly	Leu	Ser	Ala	Leu	Trp	Lys	Gly	Ile	Val
	65							70					75		80
Pro	Gly	Leu	His	Arg	Gln	Cys	Leu	Phe	Gly	Gly	Leu	Arg	Ile	Gly	Leu
				85								90			95
Tyr	Glu	Pro	Val	Lys	Ser	Phe	Tyr	Val	Gly	Asp	Asn	Phe	Val	Gly	Asp
				100								105			110
Ile	Pro	Leu	Ser	Lys	Lys	Ile	Leu	Ala	Gly	Leu	Thr	Thr	Gly	Ala	Leu
				115								120			125
Ala	Ile	Ile	Val	Ala	Asn	Pro	Thr	Asp	Leu	Val	Lys	Val	Arg	Leu	Gln
				130								135			140

Ser Glu Gly Lys Leu Pro Pro Gly Val Pro Arg Arg Tyr Ser Gly Ala
 145 150 155 160
 Leu Asn Ala Tyr Ser Thr Ile Val Lys Lys Glu Gly Leu Gly Ala Leu
 165 170 175
 Trp Thr Gly Leu Gly Pro Asn Ile Ala Arg Asn Ala Ile Ile Asn Ala
 180 185 190
 Ala Glu Leu Ala Ser Tyr Asp Gln Val Lys Gln Thr Ile Leu Lys Leu
 195 200 205
 Pro Gly Phe Ser Asp Asn Ile Phe Thr His Ile Leu Ala Gly Leu Gly
 210 215 220
 Ala Gly Phe Phe Ala Val Cys Ile Gly Ser Pro Val Asp Val Met Lys
 225 230 235 240
 Ser Arg Met Met Gly Asp Ser Ala Tyr Lys Ser Thr Phe Asp Cys Phe
 245 250 255
 Ile Lys Thr Leu Lys Asn Asp Gly Leu Leu Ala Phe Tyr Lys Gly Phe
 260 265 270
 Ile Pro Asn Phe Gly Arg Leu Gly Ser Trp Asn Val Ile Met Phe Leu
 275 280 285
 Thr Leu Glu Gln Val Lys Lys Phe Phe Ile Lys Glu Val Pro Asn
 290 295 300

<210> 3

<211> 2991

<212> DNA

<213> *Symplocarpus foetidus*

<220>

<221> CDS

<222> (286)..(1089)

<221> poly A site

<222> (1171) (1176)

<221> poly A site

<222> (1243) (1248)

<400> 3

tggtggtgac gagtgacgag gattcgcaga agaaaggcca gaacccgatt ccttcccgtc 60
 ttctttctct tccgcccaat tgcagttttt cgcagcgggt catcatcaag accctccgcc 120
 ttccgcgcc aaagccttc cacccaatcc ctccgtttcc cgaaatatc cccttccttc 180
 ccttttcttc tctacataaa ccctaaccac ccccatcttc tcctcccgtt tccgaccacc 240
 ctgcattcta ctgggatccc attgatcga cgtttcccgg cgagg atg ggc gat cac 297

Met Gly Asp His

1

ggc ccgagg acc gag atc tcg ttt gcc ggc agt tcg cga gca gca ttc 345
 Gly Pro Arg Thr Glu Ile Ser Phe Ala Gly Ser Ser Arg Ala Ala Phe
 5 10 15 20
 gcc gct tgc ttc gcc gag ctc tgt acg att ccg ttg gac act gct aaa 393
 Ala Ala Cys Phe Ala Glu Leu Cys Thr Ile Pro Leu Asp Thr Ala Lys
 25 30 35
 gtt agg ctt cag ctc caa aag aaa gca gta aca ggt gat gtg gtg gct 441
 Val Arg Leu Gln Leu Gln Lys Lys Ala Val Thr Gly Asp Val Val Ala
 40 45 50
 ttg cca aaa tac agg gga atg ttg ggc act gtt gcc act att gcc agg 489
 Leu Pro Lys Tyr Arg Gly Met Leu Gly Thr Val Ala Thr Ile Ala Arg
 55 60 65
 gag gaa ggt ttg tcg gca ctc tgg aaa gga att gta ccc ggt ttg cat 537
 Glu Glu Gly Leu Ser Ala Leu Trp Lys Gly Ile Val Pro Gly Leu His
 70 75 80
 cgt caa tgc ctc ttt gga ggg cta cga att ggg ttg tat gaa cca gtt 585
 Arg Gln Cys Leu Phe Gly Gly Leu Arg Ile Gly Leu Tyr Glu Pro Val
 85 90 95 100
 aag tcc ttt tat gtt gga gat aac ttt gtt gga gat att cct tta tcc 633

Lys Ser Phe Tyr Val Gly Asp Asn Phe Val Gly Asp Ile Pro Leu Ser	
105	110 115
aag aaa ata ctt gct ggg ctt aca aca ggt gca tta gca att ata gtg	681
Lys Lys Ile Leu Ala Gly Leu Thr Thr Gly Ala Leu Ala Ile Ile Val	
120	125 130
gca aat ccg act gac ctt gtt aaa gtt cga ctt caa tct gaa ggt aaa	729
Ala Asn Pro Thr Asp Leu Val Lys Val Arg Leu Gln Ser Glu Gly Lys	
135	140 145
ctc ccc cct ggg gta cca aga cgt tat tca ggg gcg cta aat gct tat	777
Leu Pro Pro Gly Val Pro Arg Arg Tyr Ser Gly Ala Leu Asn Ala Tyr	
150	155 160
tca acc ata gtc aaa aag gaa gga ctt ggt gct ctg tgg act ggg ctt	825
Ser Thr Ile Val Lys Lys Glu Gly Leu Gly Ala Leu Trp Thr Gly Leu	
165	170 175 180
ggt cct aat att gcc cgc aat gct att ata aat gct gct gaa ttg gcc	873
Gly Pro Asn Ile Ala Arg Asn Ala Ile Ile Asn Ala Ala Glu Leu Ala	
185	190 195
agt tat gat caa gtg aaa cag atg aag tct aga atg atg gga gat tca	921
Ser Tyr Asp Gln Val Lys Gln Met Lys Ser Arg Met Met Gly Asp Ser	
200	205 210
gcc tac aaa agc aca ttt gat tgt ttc atc aag acg ttg aaa aat gat	969
Ala Tyr Lys Ser Thr Phe Asp Cys Phe Ile Lys Thr Leu Lys Asn Asp	
215	220 225
ggg cct ctt gct ttt tac aag ggg ttt atc cca aac ttt ggt cgg tta	1017
Gly Pro Leu Ala Phe Tyr Lys Gly Phe Ile Pro Asn Phe Gly Arg Leu	
230	235 240
gga tcg tgg aat gtg atc atg ttt ttg acc ttg gag cag gtc aag aag	1065
Gly Ser Trp Asn Val Ile Met Phe Leu Thr Leu Glu Gln Val Lys Lys	
245	250 255 260

ttc ttc atc aaa gag gtg cca aat taatacattg aagtcggata ggagtagaaa 1119

Phe Phe Ile Lys Glu Val Pro Asn

265

aaaagggttt ttgtggaatt ttctctaccg gtgtggatcc tggcgagaga gaataaatct 1179
 tctgactgc tcagatgttg tacctttttt atgaatggtt cttttcttat agaggacaga 1239
 gaaaataaaa gaaaaattca ttgcatgta ctctttttcc ccatttctgc tgagtagcag 1299
 ctataccaag cagactttgt tgcitggctg ctgctaactt tgtagctgaa gaaaagtctt 1359
 acattgagtg ataacgttgt tctctgcac cttattttt cagagttact attgacaca 1419
 tgaaaagttt ttttttttt ttttttttt aacaggcagc aaatagagga atcgatctca 1479
 cgactatcct ctttattcat taacaggcat acaaacttag ggagagcatg cagggtatat 1539
 atcaaaatat acccttttat tagacatttt gcgtacacag ttggctcctca aacgactgta 1599
 tctagcagcc aatttttaga ccacattaag acagagagaa acaagcagaa gaacagggtta 1659
 ccatacatac ataggtaata attaagatga tgaacatagc ataggttcat gatctacttc 1719
 ttcttcacgt acacatgatg caccagctga atgggaatct tggtcacat atggcatgaa 1779
 agtacgtcat gtgcagacgt tatatagtgt tcttcttacc attcagcagc agcaccagag 1839
 gcatcaaaca ctggggctct gacagggtat gaggggtaca ttgcgatccc acacatgccg 1899
 tagggagtca cattgcgttt gatttttatg tatccagcct gtccccacct agtgccccat 1959
 gagttcctta caagccaata atccttccca tcttccgaac catatcctat tatcaccaca 2019
 gcatggtcga tacgttgacc acatgggtcca gcaaatacgc ccgagggtgta gtgttggaat 2079
 ccagcgcccc aagcctcaag agcaacactg acaggttgct ttgcgactgc atactgtagg 2139
 ctaacctcgt tgtacggaga aacattttca tacgcatcaa tcgaggtgac ttttaataaga 2199
 ttigctctgc aagttcctcg acgtcctgtg tacgggtaat tttgaaaaa aggagaaggg 2259
 cgggaagaag cgcgcgtctc tgctcgcgac ggggttaattc ttcatatggc cacttcgagc 2319
 atggcttcgg cagcctccag cttcgttctc actccggcct cccctccacc accacgccgg 2379
 ttccccgcgc cgccttcttt ccagggtcgc caggaggctc gtggtggtgc gggccgagga 2439
 agccgcgacg acccccgcgc ccggcgccgg cggaggggagc cgcgcccgcg cccccaagcc 2499
 gccaccgatc gggcccaaga ggggggtcaaa ggttgatata tagttcttaa tttctttccc 2559
 gtgtggcttc tggagttaga ttgttttctt cttctctttt ttgttttgt ttttcaatt 2619
 taaattttat tctcatctgt ggacgacctt ccatcggggt tttcgtcct ctcgcaggtg 2679

aagatctccg gaaggaatcc tactggttca acggtgtcgg atcgggtggtg gctgttgatc 2739
 aggatccggc gactcgatac ccggtcgtgg ttcggttcac caaggtaaac tatgcgaacg 2799
 tctcgaccaa caactacgca ctggacgaga tcctggaggt gaaatgaggg tcggcgggcg 2859
 tggtcggtcg ggcatgtcac gatgatgtat tticgcagtt ggtagtgtaa aataccatgt 2919
 cattcgtgta aaactctttc gttcgccaaa tcctcagttg aaattttaat tcccagccag 2979
 taataaaaaa aa 2991

<210> 4

<211> 268

<212> PRT

<213> *Symplocarpus foetidus*

<400> 4

Met Gly Asp His Gly Pro Arg Thr Glu Ile Ser Phe Ala Gly Ser Ser

1 5 10 15

Arg Ala Ala Phe Ala Ala Cys Phe Ala Glu Leu Cys Thr Ile Pro Leu

20 25 30

Asp Thr Ala Lys Val Arg Leu Gln Leu Gln Lys Lys Ala Val Thr Gly

35 40 45

Asp Val Val Ala Leu Pro Lys Tyr Arg Gly Met Leu Gly Thr Val Ala

50 55 60

Thr Ile Ala Arg Glu Glu Gly Leu Ser Ala Leu Trp Lys Gly Ile Val

65 70 75 80

Pro Gly Leu His Arg Gln Cys Leu Phe Gly Gly Leu Arg Ile Gly Leu

85 90 95

Tyr Glu Pro Val Lys Ser Phe Tyr Val Gly Asp Asn Phe Val Gly Asp

100 105 110

Ile Pro Leu Ser Lys Lys Ile Leu Ala Gly Leu Thr Thr Gly Ala Leu

115 120 125

Ala Ile Ile Val Ala Asn Pro Thr Asp Leu Val Lys Val Arg Leu Gln

130 135 140

Ser Glu Gly Lys Leu Pro Pro Gly Val Pro Arg Arg Tyr Ser Gly Ala
 145 150 155 160
 Leu Asn Ala Tyr Ser Thr Ile Val Lys Lys Glu Gly Leu Gly Ala Leu
 165 170 175
 Trp Thr Gly Leu Gly Pro Asn Ile Ala Arg Asn Ala Ile Ile Asn Ala
 180 185 190
 Ala Glu Leu Ala Ser Tyr Asp Gln Val Lys Gln Met Lys Ser Arg Met
 195 200 205
 Met Gly Asp Ser Ala Tyr Lys Ser Thr Phe Asp Cys Phe Ile Lys Thr
 210 215 220
 Leu Lys Asn Asp Gly Pro Leu Ala Phe Tyr Lys Gly Phe Ile Pro Asn
 225 230 235 240
 Phe Gly Arg Leu Gly Ser Trp Asn Val Ile Met Phe Leu Thr Leu Glu
 245 250 255
 Gln Val Lys Lys Phe Phe Ile Lys Glu Val Pro Asn
 260 265

【図面の簡単な説明】

【図 1】

ザゼンソウの肉穂花序の温度と気温の経時的変化を示したグラフである。

【図 2】

室温 (RT) および冷却条件 (4℃、3日間) での、ザゼンソウの肉穂花序および葉における SfUCP a (A) および SfUCP b (B) 転写産物の発現プロフィールを示したノーザンブロッティングの結果である。各々の下側の図は、未分解の rRNA をエチジウムブロマイド染色した結果である。

【図 3】

SfUCP A および SfUCP B と、既存のジャガイモ UCP (StUCP)、シロイヌナズナ UCP (AtPUMP) およびヒト UCP のアミノ酸配列比較図である。配列下段の星記号 (*) は同一アミノ酸残基を示し、点記号 (.) は全ての配列内での保存的な変化を表す。太字は、SfUCP A と SfUCP B との同

一配列を示す。配列アラインメントを最適化するために導入したギャップをダッシュ記号（-）で示す。アラインメントは、CLUSTAL Wプログラムを用いて行った。典型的なミトコンドリアエネルギー伝達タンパク質の特徴的ドメインを四角で囲む。配列上段の斜線横軸（I～VI）は予測される膜貫通ドメインを示す。

【図4】

SfUCAの疎水性プロットである。縦軸は疎水性の程度を示し、予想される膜貫通ドメインをTM1からTM6で示した。

【図5】

ミトコンドリア膜内におけるSfUCAのトポロジーの模式図である。

【図6】

SfUCBの疎水性プロットである。縦軸は疎水性の程度を示し、予想される膜貫通ドメインをTM1からTM4およびTM6で示した。

【図7】

ミトコンドリア膜内におけるSfUCBのトポロジーの模式図である。

【図8】

遺伝子SfUCPaおよびSfUCPbの各々のcDNAを鋳型とするインビトロ翻訳の結果である。（-）はコントロール、SはセンスRNA、ASはアンチセンスRNAを示す。星印記号（*）は非特異的産物であり、白丸は小さなORFによって合成された低分子量の翻訳人工産物の位置を示す。

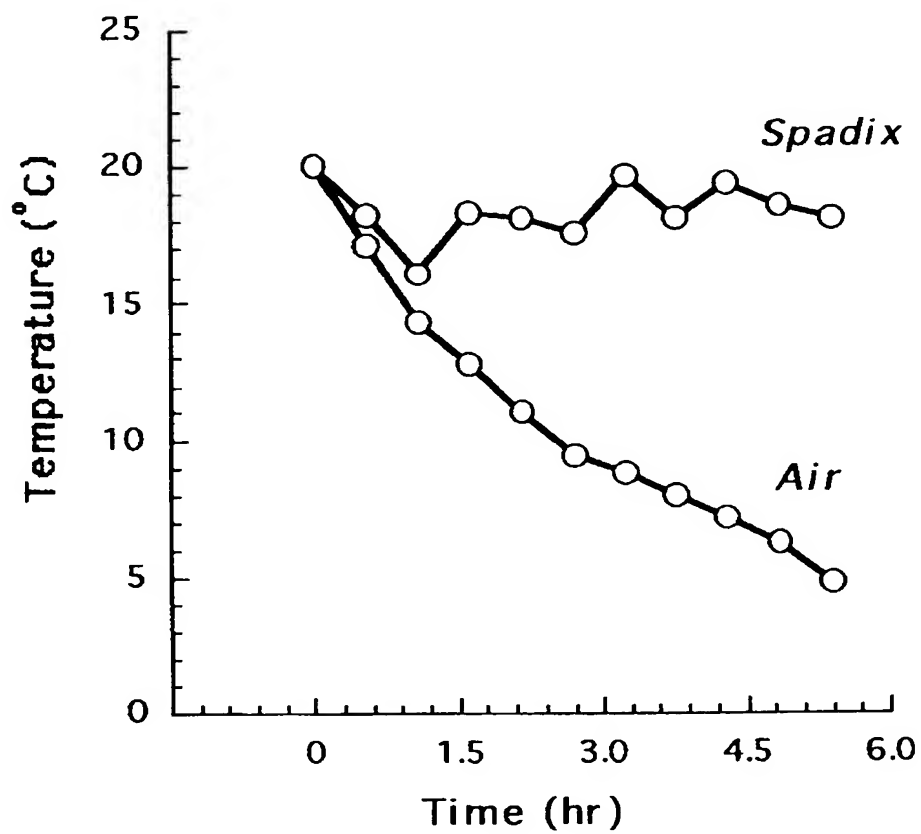
【参考文献】

- Berthold and Siedow (1993) *Plant Physiol.* 101, 113-119.
 Boss et al. (1997) *FEBS Lett.* 408, 39-42.
 Fleury et al. (1997) *Nature Genetics* 15, 269-272.
 Ito, K. et al. (1999) *Plant Sci.* 142, 57-65.
 Ito, K. et al. (1994) *Nucl. Acids Res.* 22, 2036-2041.
 Ito, Y. et al. (1997) *Gene* 12, 121-129.
 Jezek et al. (1998) *Biochem. Biophys. Acta* 1365, 319-327.
 Katiyar and Shrago (1989) *Natl. Acad. Sci. USA* 86, 2559-2562.
 Klaus et al. (1991) *Int. J. Biochem.* 23, 791-810.

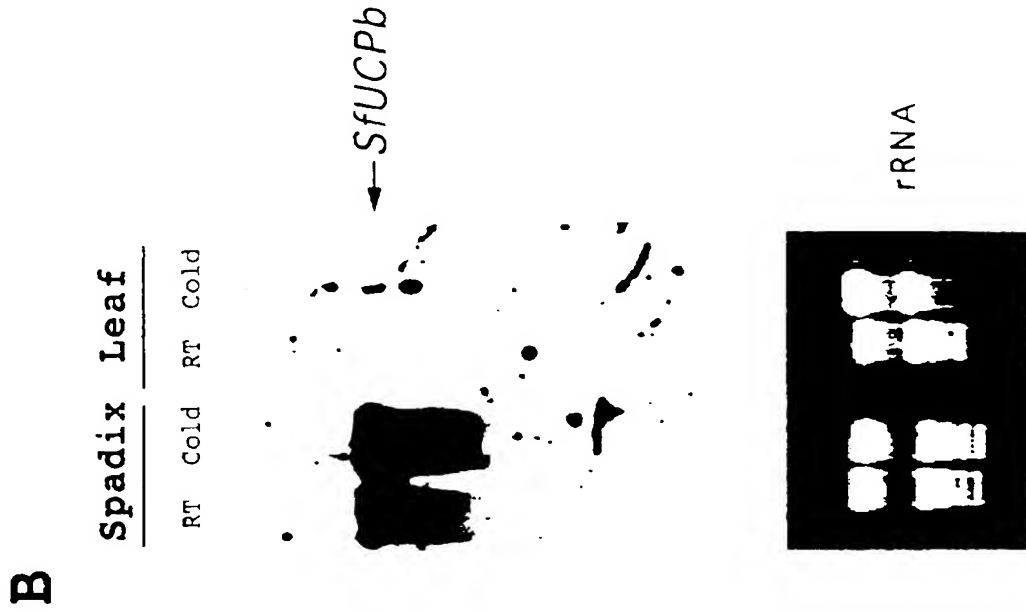
- Klingenberg and Winkler (1985) *EMBO J.* 4, 3087-3092.
- Knutson (1974) *Science* 186, 746-747.
- Laloi et al. (1997) *Nature* 389, 135-136.
- Levitt (1980) *Responses of plants to environmental stresses*. 2nd edn. New York: Academic Press
- Lin and Klingenberg (1982) *Biochemistry* 21, 2950-2956.
- Liu et al. (1988) *J. Cell. Biol.* 107, 503-509.
- Maia et al. (1998) *FEBS Lett.* 429, 403-406.
- McIntosh (1994) *Plant Physiol.* 105, 781-786.
- Nagy et al. (1972) *Science* 178, 1195-1197.
- Nicholls and Locke (1984) *Physiol. Rev.* 64, 1-64.
- Rial et al. (1983) *Eur. J. Biochem.* 137, 197-203.
- Ricquier et al. (1991) *FASEB J.* 5, 2237-2242.
- Sakai and Larcher (1987) *Frost Survival of Plants: Responses and Adaptations to Freezing Stresses*. Berlin and New York: Springer-Verlag.
- Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd eds, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schneider and Buchanan (1980) *Amer. J. Bot.* 67, 182-193.
- Sluse et al. (1998) *FEBS Lett.* 433, 237-240.
- Steponkus (1984) *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35, 543-581.
- Thomashow (1998) *Plant Physiol.* 118, 1-7.
- Uemura and Steponkus (1997) *Plant Cold Hardiness: Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology* (Li and Chen, edn). New York: Plenum Press, pp. 171-179.
- Wagner and Krab (1995) *Physiol. Plant.* 95, 318-325.

【書類名】 図面

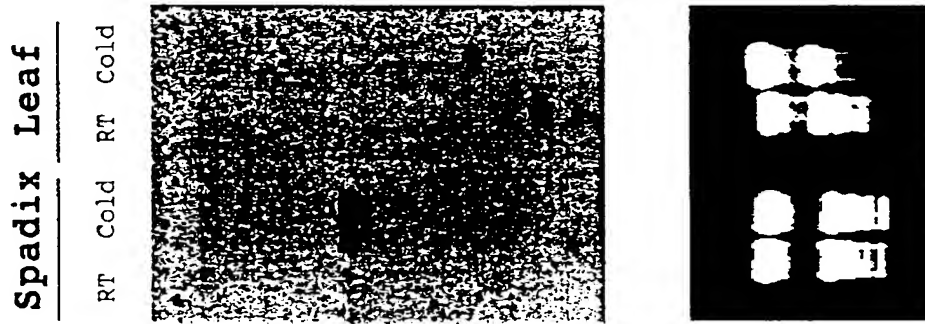
【図 1】



【図 2】



A



【図 3】

I

SfUCPA	1	--MGDEGPRTTEISFAGSSR-AAFAACFAELCTIPLDTAKVRIQLQKKA VTGDV-VALPKY	56
SfUCPB	1	--MGDEGPRTTEISFAGSSR-AAFAACFAELCTIPLDTAKVRIQLQKKA VTGDV-VALPKY	56
StUCP	1	MGGGDBGGKSDISFAGIFASSAFAACFAEACTIPLDTAKVRIQLQKKA VEGDG-LALPKY	59
AtPUMP	1	---MVAAGKSDLSPKTFACSAFAACVGEVCTIPLDTAKVRIQLQKSAFTLAGDVTLPKY	57
human UCP1	1	-MGGLTASDVHPTLGVQLFSAPIAACLADVITEPLDTAKVRIQLQVQGECP----TSSVIRY	55
human UCP2	1	-MVGFKATDVPPATATVKFLGAGTAACIADLITPLDTAKVRIQLQIGESQGPVRATASAOY	59
human UCP3	1	-MVGLKPSDVPPTMAVKFLGAGTAACFADLVTEPLDTAKVRIQLQIGENQ-AVQ TARLVQY	58

II

SfUCPA	57	RGMLGTVATIAREEGLSALWKGIVPGLHRQCLFGGLRIGLYEPVKSFFYVG--DNFVGDIP	114
SfUCPB	57	RGMLGTVATIAREEGLSALWKGIVPGLHRQCLFGGLRIGLYEPVKSFFYVG--DNFVGDIP	114
StUCP	60	RLLGTVGTTAKEEGIASLWKGIVPGLHRQCIYGGLRIGMYEPVKNLYVG--KDHVGDVP	117
AtPUMP	58	RLLGTVGTTAREEGLSLWKGIVPGLHRQCLFGGLRIGMYEPVKNLYVFTGKDFVGDVP	117
human UCP1	56	KGVLTITAVVKTEGRMKLYSGLPAGLQRISSASLRIGLYDTVQEFLLTA--GKETAPS	112
human UCP2	60	RGVMGTILTMVRTEGPRSLYNGLVAGLQRMFSASVRIGLYDSVKQFYT---KGSEHAS	115
human UCP3	59	RGVLGTILTMVRTEGPCSPYNGLVAGLQRMFSASIRIGLYDSVKQVYTP---KGADNSS	115

III

SfUCPA	115	LSKKILAGLTTCALAIIVANPTDLVKVRIQSEGLPPG-VPRRYSGALNAY--STIVKKE	171
SfUCPB	115	LSKKILAGLTTCALAIIVANPTDLVKVRIQSEGLPPG-VPRRYSGALNAY--STIVKKE	171
StUCP	118	LSKKILAGLTTCALGIIANPTDLVKVRIQAEGLKLAG-VPRRYSGALNAY--STIVKQE	174
AtPUMP	118	LSKKILAGLTTCALGIIANPTDLVKVRIQAEGLKLAG-APRRYSGALNAYFTSTIVRQE	176
human UCP1	113	LGSKILAGLTTCGVAVFICGPTLVVKVRIQASHLHG--IKERYTGTYNAY--RIIATTE	168
human UCP2	116	IGSRLLAGSTTCALAVAVAQPTDVVKVRFQAQARAG--GGRYQSTVNAY--KTIAREE	170
human UCP3	116	LTTRILAGCTTGANAVTCAQPTDVVKVRFQASIHLPSSRSDRKYSGMTDAY--RTIAREE	173

IV

V

SfUCPA	172	GLGALWTGLGPNIARNAIINAAELASYDQVKQTIILKLPGFSDNIFTHILAG--LGAGFFA	229
SfUCPB	172	GLGALWTGLGPNIARNAIINAAELASYDQVKQ-----	203
StUCP	175	GVRALWTGLGPNIGRNAIINAAELASYDQVKEAVLRIPGFTDNVVTTHILAG--LGAGFFA	232
AtPUMP	177	GVRALWTGLGPNVARNAIINAAELASYDQVKETILKIPGFTDNVVTTHILSGLFTGAGFFA	236
human UCP1	169	GLTGLWKGTTPLNLRSVIINCTELVTYDLMKEAFVKNNILADDVPCHLVSA--LIAGFCA	226
human UCP2	171	GFRGLWKGTSPPNARNAIIVNCAELVTYDLIKDALLKANLMTDDLPCHF TSA--FGAGFCT	228
human UCP3	174	GVRGLWKGTLPLNIMRNAIVNCAEVVYTDILKEKLLDYHLLTDNFPCHFVSA--FGAGFCA	231

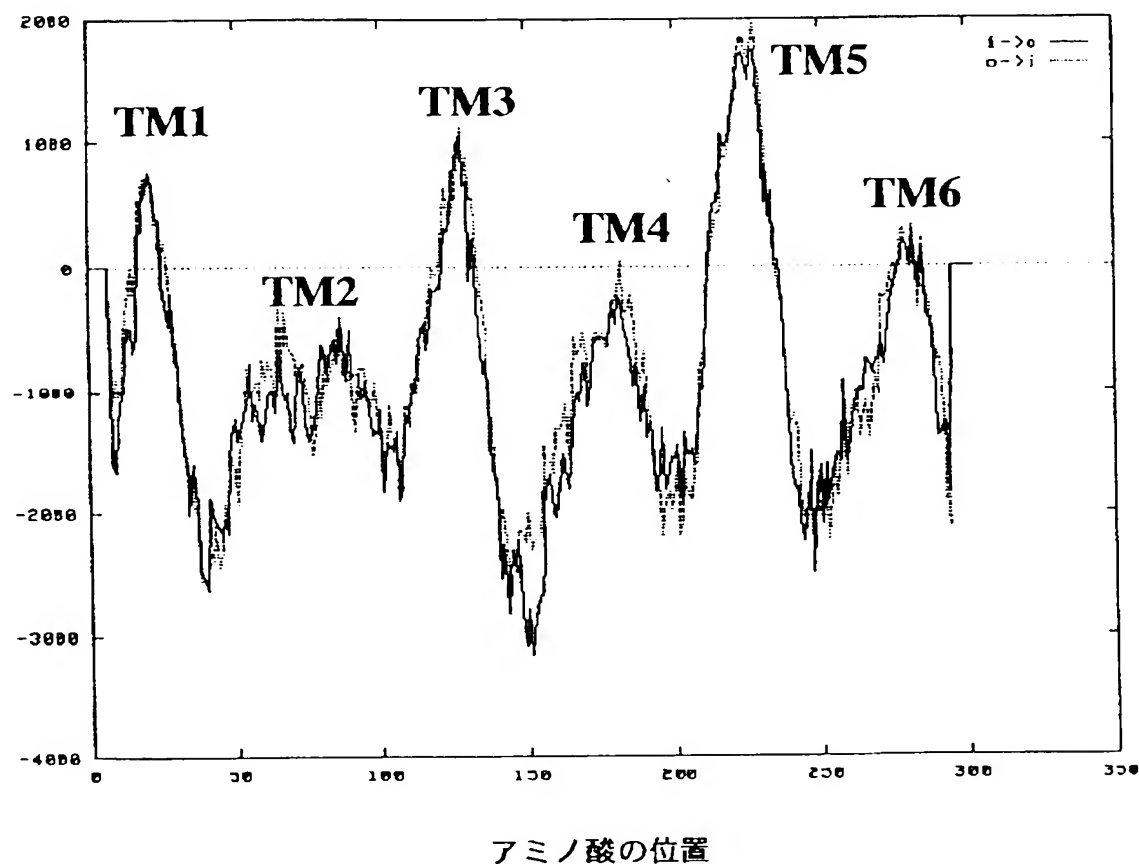
VI

SfUCPA	230	VCIGSPVDVVKSRMAGDS--AYKSTFDCTFKTLKNDGLLAFYKGFIPNFGRLG--SWNVI	285
SfUCPB	204	-----MKSRMAGDS--AYKSTFDCTFKTLKNDGLLAFYKGFIPNFGRLG--SWNVI	250
StUCP	233	VCIGSPVDVVKSRMAGDS--AYKNTLDCFVKTLKNDGLLAFYKGFIPNFGRLG--SWNVI	288
AtPUMP	237	VCIGSPVDVVKSRMAGDSG-AYKGTIDCFVKTLKSDGPMFAYKGFIPNFGRLGSGFTWNVI	295
human UCP1	227	TAMSSPVDVVKTRIMNSALGQYSSAGHCALMLQKEGPRAFYKGFIPNFGRLG--SWNVI	284
human UCP2	229	TVIASPVDVVKTRIMNSALGQYSSAGHCALMLQKEGPRAFYKGFIPNFGRLG--SWNVI	286
human UCP3	232	TVIASPVDVVKTRIMNSALGQYSSALDCMIKMAQEGPTAFYKGFIPNFGRLG--SWNVI	289

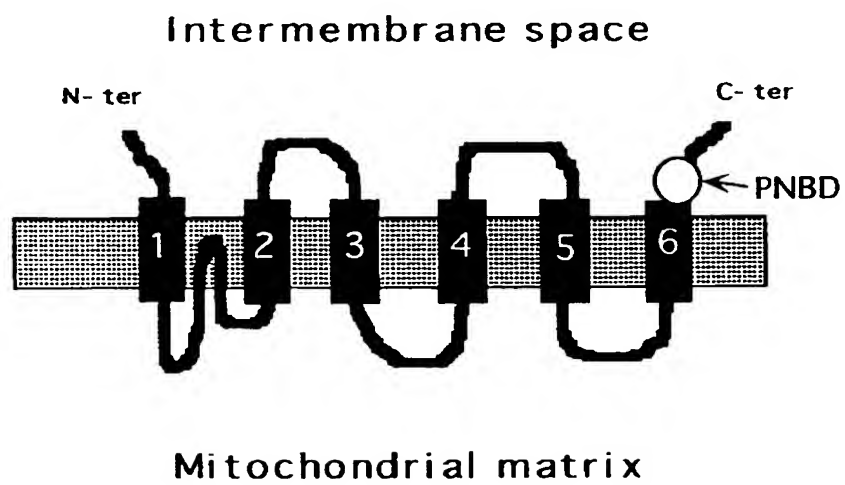
PNBD

SfUCPA	286	MFLTLEQVKKFFIKEVPN-----	303
SfUCPB	251	MFLTLEQVKKFFIKEVPN-----	268
StUCP	289	MFLTLEQAKKFFVKSLESP-----	306
AtPUMP	296	MFLTLEQAKKYVRELDASKRN--	316
human UCP1	285	MFVCFEQLKRELSKSRQTMDCAT	307
human UCP2	289	MFVTFEQLKRALMAACTSREAPF	309
human UCP3	290	MFVTFEQLKRALMKVQMLRESPF	312

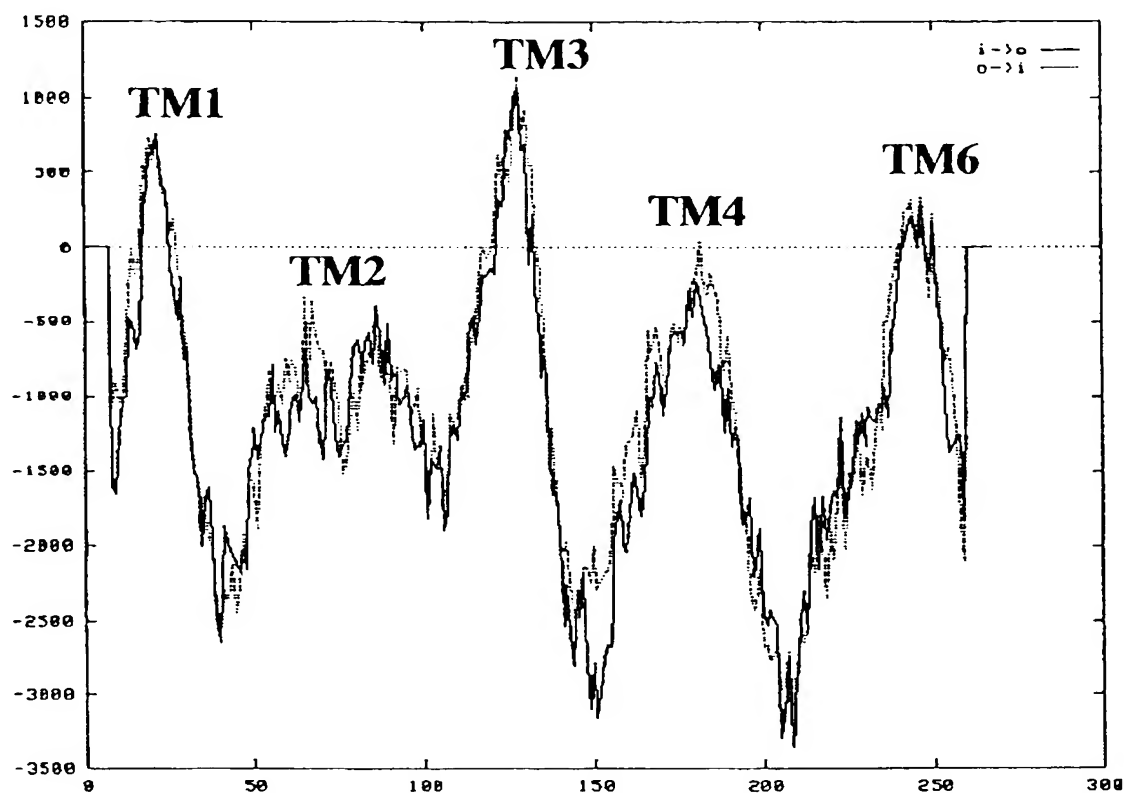
【図4】



【図 5】

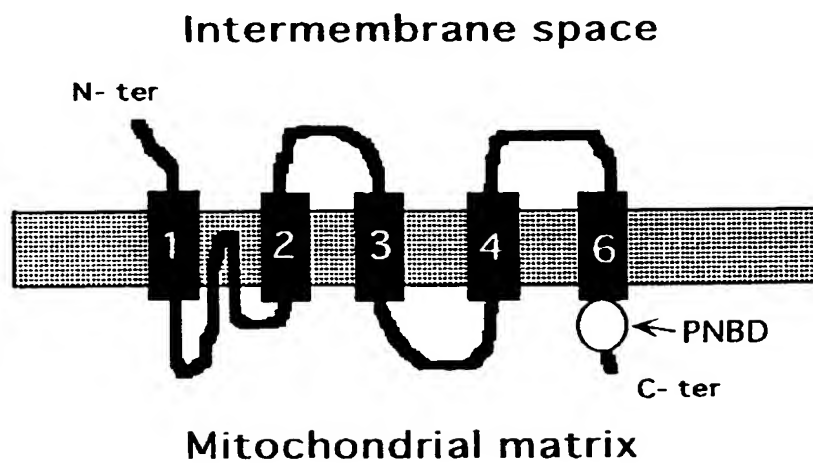


【図 6】

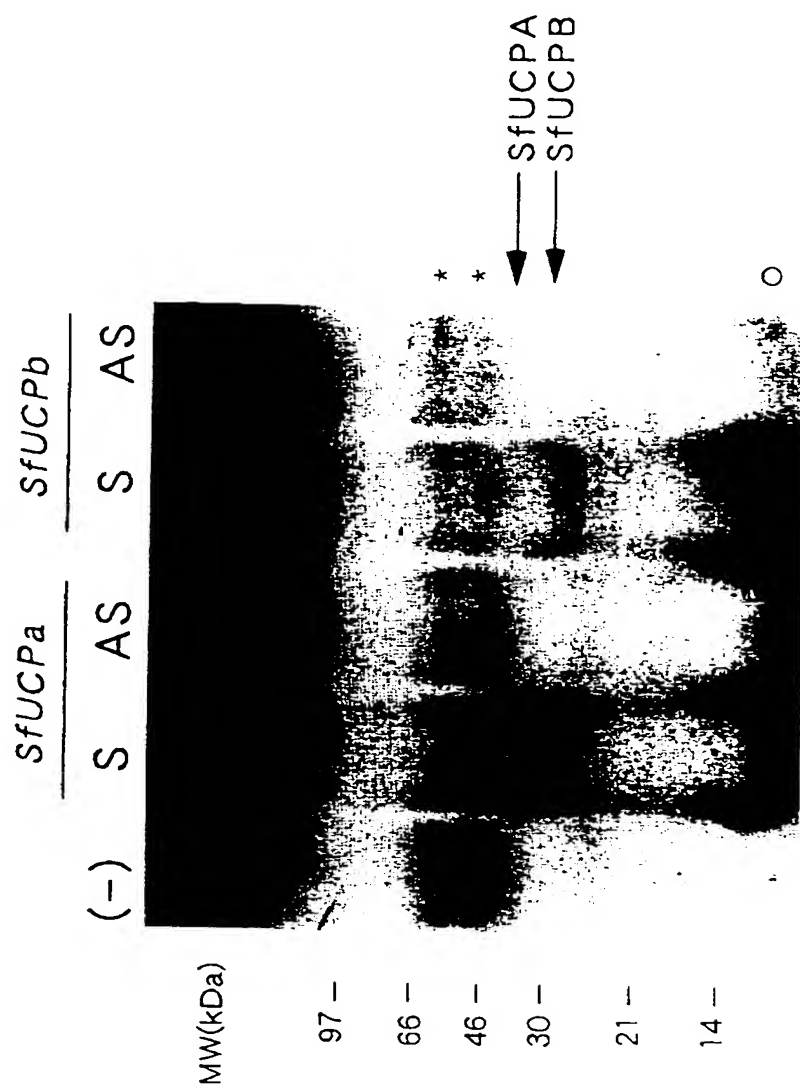


アミノ酸の位置

【図 7】



【図 8】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 熱発生植物であるザゼンソウ由来の新規発熱関連遺伝子と、この遺伝子産物である発熱関連タンパク質、並びにこのタンパク質を遺伝子工学的に大量生産するための遺伝子 c D N A を提供する。

【解決手段】 ザゼンソウ由来の発熱関連遺伝子であって、その c D N A が配列番号 1 および 3 の塩基配列をそれぞれ有することを特徴とする遺伝子 S f U C P a および S f U C P b、これら遺伝子が発現する発熱関連タンパク質であって、配列番号 2 および 4 のアミノ酸配列をそれぞれ有することを特徴とするタンパク質 S f U C P A および S f U C P B、ならびに前記遺伝子の各々の c D N A。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [396020800]

1. 変更年月日 1998年 2月24日

[変更理由] 名称変更

住 所 埼玉県川口市本町4丁目1番8号

氏 名 科学技術振興事業団